

令和 3 年 4 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07899

研究課題名(和文)肝内胆管癌発生における代謝リプログラミングの分子機構

研究課題名(英文)Analysis of metabolic reprogramming in intrahepatic cholangiocellular carcinoma

研究代表者

木暮 宏史(Kogure, Hirofumi)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60568921

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：IDH1変異が正常肝内胆管細胞に解糖系亢進などの代謝リプログラミングを誘導し増殖能を増加させることを見出した。その機構としてエピゲノムへの影響を介してエネルギー代謝の律速酵素の発現上昇を惹起し、代謝を変化させる可能性が考えられるため、本研究ではその分子メカニズムを解析した。具体的には、癌化前の正常肝内胆管細胞にIDH1変異を導入し、標的遺伝子を同定するとともに、エピジェネティクス制御機構とメタボロームへの影響の両面からその意義を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IDH遺伝子変異は、変異特異的な阻害化合物が開発され、また特異的代謝産物2-HGが血液中にもみられることから、治療および診断に直結するポテンシャルも持つ。IDH変異は前癌病変で既に認められるとの報告があるものの、既報の研究は出来上がった癌細胞を用いた検討が殆どであり、この変異が発癌ドライバー候補として種々の細胞系譜における発癌初期にどう寄与するのかについての検討は少ない。本研究では正常肝内胆管細胞の三次元培養を活用し、IDH1ゲノム変異とエピジェネティクス、エネルギー代謝という三分野を横断的に解析する研究は世界的にもいまだ報告がなく、独自性と創造性を有する。

研究成果の概要(英文)：We revealed that the mutation of IDH1 gene induced metabolic reprogramming and enhanced the growth of normal intrahepatic cholangiocytes. IDH1 mutants upregulated the expression of metabolic enzymes through epigenetic regulation. To unravel the mechanistic processes, mutant IDH1 was transfected the organoids derived from normal intrahepatic cholangiocytes. This research analyzed the epigenetic profiles and metabolic effects caused by IDH1 mutation.

研究分野：消化器内科学

キーワード：胆管癌

1. 研究開始当初の背景

IDH1/2 はイソクエン酸を還元し α -ケトグルタル酸 (α -KG) を産生する代謝酵素である。細胞内には 100 種類もの様々な α -KG 依存性脱水素酵素が存在し、DNA やヒストンの脱メチル化酵素 (TET、JMJ family)、低酸素因子 HIF1 α の分解酵素 (EGLN) など含まれる。IDH 遺伝子変異による特異的産物として α -KG から 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG) が産生され、2-HG により前述の α -KG 依存性酵素群の活性が阻害される。その結果、細胞内エネルギー代謝のみならず、エピジェネティック遺伝子発現制御や血管新生などにも影響が及びうる。

IDH 変異は白血病やグリオーマと同様に胆管癌でも報告されたが、うち肝内胆管癌 (Intrahepatic cholangiocarcinoma: ICC) のみに特異的であり、その約 30% で認められる。胆道癌ゲノム解析において IDH 変異は、ICC の背景として知られる寄生虫感染や B 型肝炎、C 型肝炎を有さない症例に集積し、DNA メチル化と genomic instability が比較的多い群として独自のグループに層別化される。一方で共存する特定の変異も殆どないことから、IDH 変異が一部の ICC にとって排他的ドライバー変異の一つであると考えられるが、それを裏付ける ICC 発症への経過における生物学的意義や下流の標的分子はいまだ明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では癌化前の正常肝内胆管細胞に IDH1 変異を導入し、それが癌化のドライバーとしてどのような影響を持つかについて、標的遺伝子を同定するとともに、エピジェネティクス制御機構とメタボロームへの影響の両面からその意義を明らかにする。

IDH 遺伝子変異は、変異特異的な阻害化合物が開発され、また特異的代謝産物 2-HG が血液中にもみられることから、治療および診断に直結するポテンシャルも持つ。IDH 変異は前癌病変で既に認められるとの報告があるものの (Am J Pathol. 2009;174(4):1149-53, Haematologica. 2010;95(10):1668-74) 既報の研究は出来上がった癌細胞を用いた検討が殆どであり、この変異が発癌ドライバー候補として種々の細胞系譜における発癌初期にどう寄与するのかについての検討は少ない。

一方、本研究では遺伝子改変マウスと正常胆管細胞オルガノイドの樹立に成功したことで、発癌の初期段階における変異の意義を解析することを可能とした。正常肝内胆管細胞の三次元培養を活用し、IDH1 ゲノム変異とエピジェネティクス、エネルギー代謝という三分野を横断的に解析する研究は世界的にもいまだ報告がなく、独自性と創造性を有する。

3. 研究の方法

野生型 IDH1(WT) および変異型 IDH1(R132C) を組織特異的に発現誘導可能な遺伝子改変マウス (CAG-*Lox Stop Lox-IDH1* transgenic mice) をそれぞれ作製した。Albumin プロモーター制御下 Cre マウスと交配し、肝芽細胞系譜で各々発現させた。それらのマウスから肝内胆管由来オルガノイドを作成し、遺伝子発現、エピゲノム制御 (DNA メチル化、ヒストン修飾プロファイル) メタボロームへの影響を解析した。

4 . 研究成果

質量分析計を用いてマウスオルガノイドの細胞内エネルギー代謝の網羅的解析を行い、2-HG の変異特異的な産生を確認した。同時に変異型特異的な解糖系の亢進を見出した。マウス肝内胆管オルガノイドの遺伝子発現の網羅的解析から、変異 IDH1 導入に伴う解糖系 Gate keeper 分子の一つ PFK の発現亢進を見出し、タンパクレベルでも確認した。PFK は解糖系へのグルコース流入をつかさどるマスター遺伝子であり、種々の癌でその過剰発現が、癌特異的な代謝リプログラミングである Warburg 効果を誘導する因子として報告されている (Crit Rev Oncol Hematol. 2014 Dec;92(3):312-21)。PFK については IDH 変異による解糖系亢進を説明できる可能性があるため、ノックダウンおよび過剰発現により、胆管細胞オルガノイドの形成能増加や、解糖系亢進などの代謝性変化に実際に寄与するかを検証した。さらに PFK 遺伝子のプロモーターおよびエンハンサー領域のヒストン修飾および DNA メチル化プロファイルへの IDH1 変異の影響について、クロマチン免疫沈降などで解析した。以上の知見は、正常肝内胆管細胞に IDH1 変異が生じると増殖能が増加し、その背景として解糖系亢進などの代謝のリプログラミングが関与している可能性を示唆する。さらにその原因として IDH1 変異によるエピゲノムへの影響から PFK などのエネルギー代謝の律速酵素の発現上昇を介している可能性が考えられた。

実臨床のヒト症例についても、病理検体を用いて IDH 変異の有無で層別化し、PFK の発現に差が見られるかどうかを検討するとともに、臨床データとの相関についても解析した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujiwara Hiroaki, Tateishi Keisuke, Misumi Kento, Hayashi Akimasa, Yamamoto Keisuke, Kudo Yotaro, Hayakawa Yoku, Nakagawa Hayato, Tanaka Yasuo, Ijichi Hideaki, Kogure Hirofumi, Nakai Yosuke, Isayama Hiroyuki, Hasegawa Kiyoshi, Fukayama Masashi, Soga Tomoyoshi, Koike Kazuhiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Mutant IDH1 confers resistance to energy stress in normal biliary cells through PFKP-induced aerobic glycolysis and AMPK activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18859
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-55211-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fujiwara Hiroaki, Tateishi Keisuke, Kato Hiroyuki, Nakatsuka Takuma, Yamamoto Keisuke, Tanaka Yasuo, Ijichi Hideaki, Takahara Naminatsu, Mizuno Suguru, Kogure Hirofumi, Matsubara Saburo, Nakai Yosuke, Koike Kazuhiko	4. 巻 109
2. 論文標題 Isocitrate dehydrogenase 1 mutation sensitizes intrahepatic cholangiocarcinoma to the BET inhibitor JQ1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3602 ~ 3610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13784	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takahara Naminatsu, Nakai Yosuke, Isayama Hiroyuki, Sasaki Takashi, Saito Kei, Oyama Hiroki, Kanai Sachiko, Suzuki Tatsunori, Sato Tatsuya, Hakuta Ryunosuke, Ishigaki Kazunaga, Takeda Tsuyoshi, Saito Tomotaka, Mizuno Suguru, Kogure Hirofumi, Tada Minoru, Koike Kazuhiko	4. 巻 36
2. 論文標題 Second-line chemotherapy in patients with advanced or recurrent biliary tract cancer: a single center, retrospective analysis of 294 cases	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Investigational New Drugs	6. 最初と最後の頁 1093 ~ 1102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10637-018-0670-1	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara Hiroaki, Takahara Naminatsu, Tateishi Keisuke, Tanaka Mariko, Kanai Sachiko, Kato Hiroyuki, Nakatsuka Takuma, Yamamoto Keisuke, Kogure Hirofumi, Arita Junichi, Nakai Yousuke, Kasuga Masato, Ushiku Tetsuo, Hasegawa Kiyoshi, Koike Kazuhiko	4. 巻 35
2. 論文標題 5-Aminolevulinic acid-mediated photodynamic activity in patient-derived cholangiocarcinoma organoids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 484 ~ 490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2020.10.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 藤原弘明, 立石敬介, 小池和彦
2. 発表標題 胆道癌ゲノム医療に向けた IDH変異陽性肝内胆管癌の標的分子に対する基礎的検討
3. 学会等名 第55回日本胆道学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤原 弘明 (Fujiwara Hiroaki) (00814500)	東京大学・医学部附属病院・届出研究員 (12601)	
研究分担者	立石 敬介 (Tateishi Keisuke) (20396948)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------